



TITLE:

# 肝 Arginase 作用に関する研究(第二報). 家兔肝自家融解が其の Arginase 作用に及ぼす影響に就きて

AUTHOR(S):

海住, 優

---

CITATION:

海住, 優. 肝 Arginase 作用に関する研究(第二報). 家兔肝自家融解が其の Arginase 作用に及ぼす影響に就きて. 化学研究所講演集 1939, 10: 135-139

ISSUE DATE:

1939-11-30

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/73668>

RIGHT:

## 肝 Arginase 作用に關する研究 (第二報)

### 家兎肝自家融解が其の Arginase 作用に 及ぼす影響に就きて

内 野 研 究 室

醫 學 士      海      住      優

著者 (1938)<sup>1)</sup> は既に家兎に於て燐中毒の場合、其の肝 Arginase 作用は低下の傾向を示し、其の血液 Arginase 作用は著明に増強する事實を報告せり。一方、燐中毒の際、肝に自家融解現象の起る事は既に屢々述べられし所なるが、殊に最近陳 (1939)<sup>2)</sup> は燐中毒家兎肝の Kathepsin 性自家融解現象の著しく促進せしを觀察せり。茲に肝自家融解が肝 Arginase 作用に如何なる影響を及ぼすかを觀察するは興味ある問題にして、一には著者の報告せる Arginase 作用低下の理由の闡明に資せんとする知見を得んとするものなり。

動物死後直に取出せる家兎肝を磨潰し粥狀となし、之を Toluol 層下に PH 5.0, 7.0 或は 7.6 に於て 37°C, 24 時間保置したる後、之等各々肝粥の遠心分離上清並にその沈渣に就き測定觀察せり。對照として氷室に保置したる試験も検査せり。

(一) PH 5.0 に於ける試験 (第 1 表). PH 5.0 の調節液を以て製したる肝粥浮游液に於て、其の調製後直ちに其の一部分を遠心分離し、上清液並に沈渣の水浮游液に就き Arginase 作用を觀察せり。殘部を二分し、一方を溫室 (37°C) に、他方を氷室に貯へ、兩者共に 24 時間後遠心分離し、その上清液並に沈渣浮游液に就き該作用を觀察せり。調製直後に於ては其の添加 Arginin 分解に依る消費酸量は上清液に就きて觀れば 3.90 ccm, 沈渣浮游液に就きて觀れば 1.20 ccm にして Arginase 作用は陽性なり。亦硫酸 Mangan にて賦活せし場合は、上清液 40.10 ccm, 沈渣浮游液 30.30 ccm にして該作用は著明に増強せり。然るに 37°C, 24 時間保置せし肝粥浮游液に於ては、其の Arginase 作用は賦活せし場合と雖も全く陰性の結果を得たり。對照として同時に氷室に放置せる肝粥浮游液に於ては、其の Arginase 作用は調製直後に於ける該肝粥浮游液のそれと殆んど等しきか或は稍々低下せる値を得たり。即ち上記の成績より PH 5.0 に於て肝粥を自家融解せしむるときは其の含有せらるゝ Arginase 酵素は全く其の作用を

消失するものと認む。

(二) PH 7.0 に於ける試験 (第 2 表). PH 7.0 の調節液を用ひて家兎肝粥浮游液を調製し、前述 PH 5.0 に於ける試験と同様の検査を行ふ。調製直後に於ける添加 Arginin 分解に依る消費酸量は、上清液 36.80 ccm, 沈渣浮游液 15.00 ccm なり。亦硫酸 Mangan にて賦活せし場合は上清液 43.10 ccm, 沈渣浮游液 25.80 ccm なり。即ち著明なる Arginase 作用を呈す。次に 37°C, 24 時間放置したる肝粥浮游液に就きて觀るに上清液 24.30 ccm, 沈渣浮游液 13.60 ccm にして賦活せし場合は上清液 25.20 ccm, 沈渣浮游液 17.20 ccm なり。即ち調製直後に比し減弱せり。對照として氷室に貯へたる肝粥浮游液に就きての Arginase 作用は調製直後に於けるそれと殆ど等しき成績を示せり。即ち PH 7.0 に於て肝粥を自家融解せしむるときは其の含有せらるゝ Arginase 酵素は其の作用を減弱せらるゝものと認む。

(三) PH 7.6 に於ける試験 (第 3 表). PH 7.6 の調節液を用ひて家兎肝粥 Suspension を調製し上述の二例と同様の検査を行ふ。調製直後に於ては其の添加 Arginin 分解に依る消費酸量は上清液 39.80 ccm, 沈渣浮游液 18.40 ccm なり。硫酸 Mangan に依り賦活せし場合は上清液 49.50 ccm, 沈渣浮游液 30.40 ccm なり。即ち著明に Arginase 作用を證明し得たり。次に該肝粥浮游液を 37°C, 24 時間保置せしものに就き Arginase 作用を觀たるに上清液 28.90 ccm, 沈渣浮游液 11.70 ccm なり。硫酸 Mangan にて賦活せし場合は、上清液 32.70 ccm, 沈渣浮游液は 14.70 ccm なり。即ち調製直後よりは明に減弱せり。一方對照として氷室に放置せるものに就きて該作用を觀るに略々調製直後の成績に等しい。即ち PH 7.6 に於て肝粥を自家融解せしむるときはその含有せらるゝ Arginase 酵素は其の作用を減弱するものと認む。

以上の成績を通覽するに最も顯著なる變化は PH 5.0 の場合なり。この場合は Arginase 作用全く陰性となる故に該酵素は完全に破壊を受くるものと考へらる。Edlbacher 並に Zeller (1937)<sup>3)</sup> 次で又 Edlbacher 及び Pinösch (1937)<sup>4)</sup> は Arginase に Trypsin を作用せしむる時、Arginase 作用の消失する事を認め、Arginase 分子は Mangan が關與せる Wirkungsgruppe と蛋白性の Kolloider Träger より成立し、この蛋白性 Kolloider Träger が Trypsin の爲に消化せられ、茲に Arginase 分子の破壊が起るものならんと提唱せり。前述の PH 5.0 に於て肝粥の自家融解を起さしめたる際、その Arginase 作用の消失は該酵素が Kathepsin 性自家融解作用に依り破壊を受くるものと考へらる。即ち肝 Kathepsin が Edlbacher の所謂蛋白性 Kolloider Träger を分解し茲に Arginase 分子の破壊が起るものと説明せらる。

PH 7.0 或は 7.6 に於て Arginase 作用の減弱を觀るとは云へ、PH 5.0 の場合に比すれば遙に微弱なるものにて、かゝる減弱を生ずべき要因は弱鹼反應に於ける上述 Kathepsin の低下

せる作用に依るものならんとも想像せらるゝも、弱滲反應に於ては Peptonase, Peptidase, Acylase 等の作用も顯著なる故に、其の何れに起因するかは斷言すべからざる所となす。

上述の觀察成績に依り、著者の發表せる磷中毒の場合に於ける家兎肝 Arginase 作用の減弱を來す理由に就きて茲に之を説明し得る一新知見を得たるものにして、尙 Arginase 酵素に關し Edlbacher (1937)<sup>3,4)</sup> 等の提唱せる、その蛋白性知見に就きても、之に一致せる實驗結果を得たるものなりと信ず。

## 實 驗 部

健康なる家兎を其の後頭部を叩き屠殺して、直にその肝を剔出し吸収紙を以て押へ其の含まるゝ血液を拭ひ去り、之を細く磨潰して粥狀となす。茲に得たる肝粥を三分し、その各々に10倍容量の各種 PH の調節液、即ち (1) Citratpufferlösung (PH 5.0), (2) Phosphatpufferlösung (PH 7.0), (3) Phosphatpufferlösung (PH 7.6) を加へよく混和し、三種の肝粥浮游液を造る。以上の操作は可及的迅速に且冷所に於て行ふ。

次に之等三種の肝粥浮游液の各々に就きて夫々下記の實驗を行ふ。

(A) 上記の如く調製せる肝粥浮游液三分して次の如き處置を施す。

(1) Toluol を重層して 37°C の温室に貯へ 24 時間後、(B) の操作をなす。

(2) Toluol を重層して氷室に貯へ 24 時間後、(B) に示す如き操作をなす。

(3) 直に (B) に示す操作をなす。

(B) この肝粥浮游液を遠心分離 (2000 廻轉, 15 分間) して、先づ其の上清液を傾倒分別し、次に殘留沈渣に、分別したる上清液と等量の水を加へて浮游液となす。茲に得たる上清液並に沈渣浮游液を酵素液となし、その Arginase 作用を測定検査す。

(C) Arginase 作用検査は本試験として次に示す如き試験液に就き、反應 PH 9.0 の許に 38°C, 2 時間保置分解せしむ。當該分解試験液中の添加總 Arginin より分解發生せる尿素量を Urease 法を用ひて、0.02n-硫酸中に蒸溜測定せり。對照試験としては基質を含有せざる酵素液調節液を同一條件下に處理したる場合の尿素發生量を測定せり。表には本試験値より對照試験値を差引きたる、茲に Arginase 作用に依り發生せし尿素より發生せる安門中和に消費せられたると見る可き 0.02n-硫酸の ccm 數を掲ぐ。

### 試 驗 液

5.0 ccm	0.1 Mol Arginin 鹽酸鹽 (中和使用す)
2.0 ccm	酵 素 液
1.0 ccm	水 (非賦活)

或は 0.005 Mol 硫酸 Mangan 液 (賦活)

7.0 ccm 0.1 Mol Glykokoll-NaCl-NaOH 調節 (PH 9.0 に調節液す).

第 1 表 pH 5.0 に於ける試験 (37°C, 24 時間)

消 費 酸 増 加 量 (ccm 0.02n-SO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> )					
酵 素 液		上 清 液		残 渣 浮 游 液	
Mn 「イ オ ン」		(-)	(+)	(-)	(+)
調 製 直 後		3.90	40.10	1.20	30.30
		3.50	38.89	1.20	27.60
24時間	温 室 (37°C)	0	0.50	0	0.40
		0	0	0	0
保 置	水 室	3.50	39.70	1.00	25.30
		3.40	38.20	0.90	25.10

第 2 表 pH 7.0 に於ける試験 (37°C, 24 時間)

消 費 酸 増 加 量 (ccm 0.02n-SO <sub>2</sub> H <sub>4</sub> )					
酵 素 液		上 清 液		残 渣 浮 游 液	
Mn 「イ オ ン」		(-)	(+)	(+)	(+)
調 製 直 後		36.80	43.10	15.00	25.80
		36.30	42.80	15.50	24.90
24時間	温 室 (37°C)	24.30	25.20	13.60	17.20
		22.80	25.10	13.50	18.00
保 置	水 室	37.30	41.50	13.00	24.70
		35.10	40.10	13.30	22.80

第 3 表 pH 7.6 に於ける試験 (37°C, 24 時間)

消 費 酸 増 加 量 (ccm 0.02n-SO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> )					
酵 素 液		上 清 液		残 渣 浮 游 液	
Mn 「イ オ ン」		(-)	(+)	(+)	(+)
調 製 直 後		39.80	41.50	18.40	30.40
		39.90	48.80	18.50	31.20
24時間	温 室 (37°C)	28.90	32.70	11.70	14.70
		29.50	32.80	10.90	14.20
試 験	水 室	38.90	44.40	14.90	24.10
		39.50	45.10	17.50	28.20

### 總 括

1) 家兎肝を PH 5.0, 7.0 或は 7.6 にて Toluol 層下に保置, 自家融解 (37°C) を起さしめ, その Arginase 作用との關係を觀察せり.

2) 家兎肝 Arginase 作用は, pH 5.0 に於ける自家融解 (37°C) に際し賦活又非賦活いづれ

の場合も全然消失せり。

3) PH 7.0 又 PH 7.6 に於ける自家融解 (37°C) に際しては, 家兎肝 Arginase 作用の量的に減弱するを認むるに過ぎず。

4) 氷室に各試験調製液を貯ふる時は, 其の測定値は試験液調製直後の値と殆ど差違を認めず。即ち氷室内 (24 時間) にては Arginase 作用は殆ど影響を受けず。但し弱酸性反應 (PH 5.0) に處理せる場合には, Arginase 作用の全賦活度 (Vollaktivität) に差違なきも, 其の活性度 (Aktivität) 著しく低下せるは甚だ注意すべき成績なり。Edlbacher 及び Pinösch (1937)<sup>4</sup> 等も, 鹽酸酸性に依る影響を認め而も  $Mn^{++}$  に依り恢復するを報告せり。

5) PH 5.0 に於ける自家融解 (37°C) の際, Arginase 作用の消失するは, 恐く Kathepsin 作用に依るものと信ず。本成績は, 陳氏 (1939)<sup>3)</sup> 磷中毒家兎肝の自家融解現象の著しく増強せる觀察 (未發表) と併せ考ふるに, 著者の既に發表せる, 磷中毒家兎肝 Arginase 作用の減弱の理由知見として甚だ興味あるものなり。尙 Kathepsin 性自家融解現象とともに Arginase 作用の消失は, Edlbacher 等 (1937)<sup>3,4)</sup> の提唱せる Arginase 本態の蛋白性なりと云ふ報告と一致せる成績知見なり。

本研究は服部報公會の研究援助を受けたるに就き茲に感謝の意を表す。尙恩師内野教授の懇切なる御指導並に御校閲の勞に對し衷心より謝意を表す。

## 文 獻

- 1) Kaiju, M., (1938), Journ. of Biochem., **28**, 405
- 2) Ch'ên, T. T., (1939), Tohoku Journ exp. Med., **35**,
- 3) Edlbacher, S. und Zeller, A., (1937), Zeits. f. Physiol. Chem., **245**, 65
- 4) Edlbacher, S. und Pinösch, H., (1937), ebenda, **250**, 241